

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA E ZOOLOGIA
LABORATÓRIO DE BIOLOGIA DE TELEÓSTEOS E
ELASMOBRÂNQUIOS**

Cláudia de Souza Aguiar

**INFLUÊNCIA DA COLORAÇÃO CORPORAL NA INTERAÇÃO
AGONÍSTICA ENTRE PEIXES *BETTA SPLENDENS***

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Centro de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do Grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador Prof. Dr. Renato Hajenius Aché de Freitas

Florianópolis, Fevereiro de 2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Aguiar, Cláudia

INFLUÊNCIA DA COLORAÇÃO CORPORAL NA INTERAÇÃO
AGONÍSTICA ENTRE PEIXES BETTA SPLENDENS / Cláudia
Aguiar ; orientador, Renato Hajenius Aché de Freitas
Florianópolis, SC, 2016.

36 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de
Ciências Biológicas. Graduação em Ciências
Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Comportamento
agonístico. 3. *Betta splendens*. 4. Preferência por
coloração. I. Hajenius Aché de Freitas, Renato. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COORDENADORIA DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Telefone: (0xx48) 3721-9235, Fax: 3721-9672 – e-mail: ccbh@ccb.ufsc.br - <http://cienciasbiologicas.grad.ufsc.br>

BIO7016 – Trabalho de Conclusão de Curso II
ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
Semestre 02/2015

1. Aluno

Aluna: Cláudia de Souza Aguiar
Número de matrícula: 11106557

2. Trabalho

Título do Trabalho: INFLUÊNCIA DA COLORAÇÃO CORPORAL NA INTERAÇÃO AGONÍSTICA ENTRE
PEIXES BETTA SPLENDENS

Orientador(a): Prof. Dr. Renato Hajenius Aché de Freitas

Co-Orientador(a): _____

Local de apresentação do trabalho: Sala de Audiovisual do Depto de Ecologia e Zoologia (ECZ) do Centro de
Ciências Biológicas da UFSC

3. Avaliação pela banca examinadora


Presidente: Prof. Dr. Renato Hajenius Aché de Freitas Nota: 9,5

Membro Titular: Dr. Walter Luis Alves dos Santos Nota: 9,5

Membro Titular: Dra. Ana Maria Rubini Liedke Nota: 8,5

Membro Suplente: Ms Alexandre Siqueira Corrêa Nota: 8,5


Média Final: 9,0 (Nove)



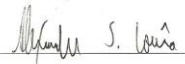
PRESIDENTE DA BANCA



MEMBRO TITULAR



MEMBRO TITULAR



MEMBRO SUPLENTE

Florianópolis, 18 de fevereiro de 2016.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é um dos primeiros gestos de educação que aprendemos, na infância não nos faz tanto sentido esse gesto, fazendo até que nos esqueçamos de praticá-lo inúmeras vezes, mas com o amadurecimento percebemos o quão importante e significativo é. Não é fácil agradecer, existem pessoas que tocam e marcam nossas vidas de uma maneira única que um simples “obrigada” não parece o suficiente. Como retribuir tanto amor em simples palavras? Impossível! Não existem frases, palavras, letras que expressem o tamanho de minha gratidão, mas por hora deixarei registrado para algumas pessoas a importância delas para a conclusão deste trabalho como também de toda a minha graduação.

Primeiramente agradeço a Deus pela minha vida, pela minha família, e pela possibilidade de conclusão de um curso de graduação.

Agradeço infinitamente minha mãe Elizete Benta de Souza Aguiar, pela maravilhosa família, pela minha educação, por me mostrar o amor pelos estudos, pelo esforço desempenhado em me ajudar em toda a minha vida como neste trabalho também, em me manter firme no caminho e por cuidar de mim sempre. Obrigada mãe, por suportar as inúmeras idas ao hospital, por passar noites em claro comigo, por limpar meus curativos e por sempre me incentivar a seguir em frente e de cabeça erguida. Você é minha inspiração diária.

Ao meu pai Francisco Paulo Aguiar, por ser meu mestre, sempre me mostrar que posso melhorar cada dia mais, pelos seus esforços em me dar uma vida feliz e confortável, pela educação a mim oferecida, pela família que tenho e sobre tudo pelo seu amor.

Aos meus irmãos Eduardo de Souza Aguiar, pela ilustração presente neste trabalho, e Bruna de Souza Aguiar, por me incentivarem, por acreditar em meu potencial, mas acima de tudo, por me amarem e serem ótimos irmãos.

Ao meu noivo Francys Carminatti, pelas inúmeras noites acordado me fazendo companhia enquanto estudava para as provas, pela ajuda na conclusão deste trabalho, por ser meu amigo, parceiro, companheiro, cumplice, ajudante e professor. Amor muito obrigada por tudo.

A minha madrinha Elizandra Souza Cunha, pelo seu amor e amizade, por não ter me deixado desistir nas primeiras tentativas e por me aconselhar tão sabiamente. E a minha avó, Benta Maria de Souza por sua vivacidade e por sempre me dizer “estuda minha filha, estuda que sem estudo não vamos pra frente”.

A minha companheira de quatro patas, Luma, que esteve sempre ao meu lado me fazendo companhia, me distraindo quando necessário e alegrando sempre. Adora ficar ao lado do computador, ou dividindo espaço com os livros sobre a cama.

Aos meus colegas de turma, principalmente aos “Amores da UFSC”, apelido carinhoso dado ao nosso grupo de amigos, que se manteve firme, ajudando uns aos outros, aconselhando, dando risadas, chorando juntos, reclamando juntos. Muito obrigada a Ezequiel Rodriguez, Francielle Ferreira, Isabel Brandalise, Isadora Vasques, Josiane Dutra, Mayara Schmitt, Tayrine Weber e especialmente a Josiane Wolff pelo amor, extremo carinho, companheirismo e ajuda neste como em inúmeros outros trabalhos, e a Amanda Formehl pelo amor, parceria, companheirismo e cumplicidade. Também a João Francisco Souza, pela maravilhosa ilustração de peixes contida neste trabalho e pela sua amizade nesses cinco anos de curso.

Ao meu orientador Renato Hajenius Aché de Freitas, por ser meu mentor, ter me dado essa oportunidade, pela sua orientação neste trabalho e acima de tudo por ter acreditado em meu potencial.

A todos deixo meu mais sincero Muito Obrigada.

RESUMO

As relações evolutivas entre os organismos são de grande importância para a manutenção das espécies, e uma das razões do sucesso evolutivo de uma espécie é sua variabilidade genética e fenotípica. O peixe *Betta splendens* possui diferentes padrões de coloração corporal e exibe um comportamento agonístico vigoroso quando confrontado com um oponente intraespecífico ou seu reflexo. Acredita-se que as interações agonísticas de *B. splendens* possam sofrer essa variabilidade fenotípica de coloração corporal. Assim, o presente estudo investigou se existe preferência na interação agonística por coloração corporal de machos *B. splendens*. Foi testada a hipótese de que o peixe de uma determinada cor tem mais interesse em confrontar-se com outro da mesma cor em detrimento ao de cor distinta e, conseqüente, valorizar a variabilidade fenotípica da espécie. Foram utilizados machos de coloração azul e vermelha ($n = 10$). Os animais foram colocados em três aquários: um maior que abrigou o animal foco analisado, e os outros dois menores que abrigaram os outros dois espécimes (sendo um com coloração igual ao animal foco e o outro de coloração distinta). Os aquários foram vídeo-filmados e com o registro foram feitas análises do tempo de permanência do indivíduo em frente a cada aquário, da escolha primária do animal foco, dos comportamentos agonísticos específicos e do tempo de ataque para os comportamentos Ataque Frontal (F), Ataque Lateral (L), Ataque Lateral com Bolha (LB) e a frequência do comportamento Bolha (B), como também o tempo total dos comportamentos de Ataque (F+L+LB), que possibilitou identificar a preferência do animal em estudo. O animal foco de cor azul mostrou preferência pela coloração diferente, em tempo de permanência do indivíduo em frente a cada aquário e tempo total dos comportamentos F e B, podendo ser uma resposta ao número superior de carotenoides do oponente vermelho. Já os resultados das outras análises para o animal foco azul, como também todas as análises para o animal foco vermelho não foram significativas podendo suas escolhas terem tanto sofrido maior influência do número de carotenoides do competidor quanto pelas diferenças no fenótipo.

Palavras-chave: Comportamento animal; Peixe-de-briga-siamês; Seleção sexual; Peixes; Preferência.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Exemplares machos de *Betta splendens*..... 15
- Figura 2:** Imagem mostrando o dimorfismo sexual entre fêmeas (A) e machos (B) da espécie *Betta splendens*, juntamente com o esquema anatômico de um macho (B)..... 18
- Figura 3:** Disposição e dimensão dos aquários - as bordas grossas nas figuras dos aquários demonstram que as laterais são isoladas para que os animais não tenham contato visual com o meio externo. 22
- Figura 4:** Imagem demonstrativa da disposição dos aquários, dos separadores opacos fixo e removível, e dos peixes no vídeo..... 23
- Figura 5:** Esquema demonstrativo do anteparo condutor, da área de análise do comportamento agonístico e dos separadores opacos fixo e removível. 24
- Figura 6:** Tempo médio (\pm desvio padrão) de permanência que o animal foco despendeu em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente ($U = 131,0$)..... 26
- Figura 7:** Tempo médio (\pm desvio padrão) de permanência que o animal foco (A: azul - $U = 48,0$; B: vermelho - $U = 15,0$) despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente. 26
- Figura 8:** Média do tempo (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o Ataque Frontal (A) ($U = 147,0$), Ataque Lateral (B) ($U = 146,0$), Ataque Lateral com Bolha (C) ($U = 178,0$). Frequência (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o comportamento Bolha (D) ($U = 153,0$). 28
- Figura 9:** Média do tempo (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o comportamento Frontal (A: azul - $U = 22,0$; B: vermelho - $U = 48,0$), Lateral (C: azul - $U = 30,0$; D: vermelho - $U = 42,5$) e Lateral com Bolha (E: azul - $U = 35,0$; F: vermelho - $U = 46,0$); Frequência (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e

diferente realizando o comportamento Bolha (G: azul - $U = 21,5$; H:
vermelho - $U = 40,0$).....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação zoológica de *Betta splendens*..... 16

Tabela 2: Frequência de primeira escolha do peixes foco em relação ao peixe não-foco (N=10)..... 27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 <i>Betta splendens</i>	16
1.1.1 Anatomia	17
1.1.2 Alimentação.....	19
1.1.3 Visão espectral.....	19
1.1.4 Respiração	19
1.1.5 Comportamento agonístico	20
2. OBJETIVO GERAL	21
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 ANIMAIS	21
3.2 AQUÁRIOS.....	22
3.3 EXPERIMENTO	23
3.4 ANÁLISE DOS VÍDEOS.....	24
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
3.6 ÉTICA.....	25
4. RESULTADOS	25
4.1 TEMPO DE PREFERÊNCIA.....	25
4.2 ETOGRAMA.....	27
4.3 COMPORTAMENTOS ESPECÍFICOS	27
5. DISCUSSÃO	30
REFERÊNCIAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

A produção de peixes ornamentais é uma modalidade da aquicultura em plena expansão nas ultimas décadas (CHAPMAN *et al.*, 1997) por ser uma das atividades mais lucrativas da piscicultura (ZUANON *et al.*, 2009). Entre as espécies ornamentais mais cultivadas destaca-se o *Betta splendens* Regan 1910, utilizada por muito tempo para fins desportivos (SMITH, 1945) e atualmente considerada uma das espécies de peixe mais importantes, quando se fala em ornamentação (CHAPMAN *et al.*, 1997). Tal importância se deve ao fato da espécie possuir uma grande variedade de cores, nadadeiras vislumbrantes (Figura 1) e por dispor de respiração aérea acessória que permite seu manejo em pequenos aquários sem aeração (ZUANON *et al.*, 2009).

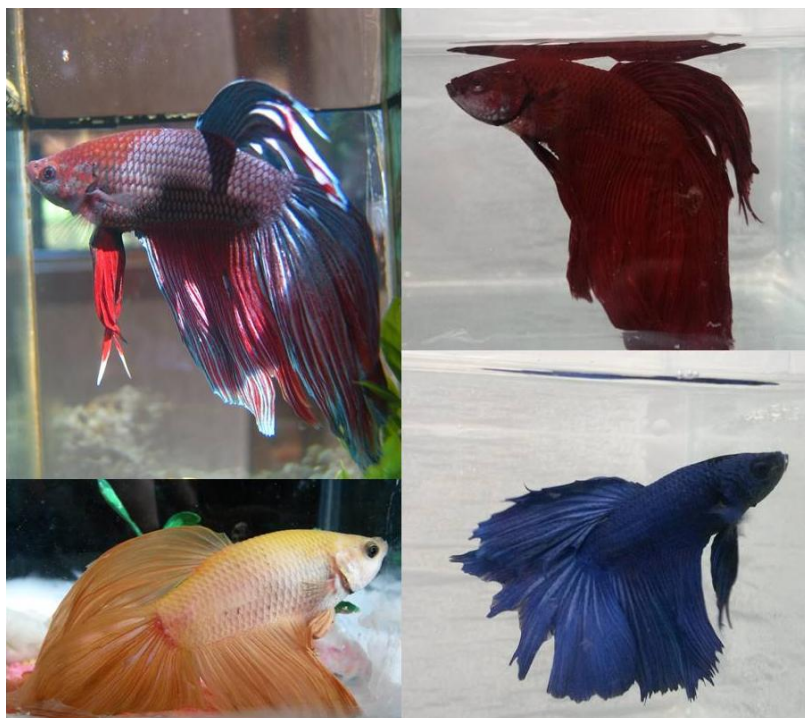


Figura 1: Exemplos machos de *Betta splendens*.

Fonte: Acervo de Renato Freitas.

Uma vez que o Brasil apresenta grande potencial hídrico e climático (SILVA, 2013), proporciona ótimas condições para a criação de uma grande variedade de espécies de peixes, inclusive espécies exóticas, como o *B. splendens*. A criação desta espécie tem destaque na região da Zona da Mata Mineira principalmente, mas outras regiões do país também apresentam criadouros importantes (ZUANON *et al.*, 2009).

1.1 *Betta splendens*

Originário do Sudeste Asiático, mais precisamente do Camboja, Vietnã, Tailândia e da Malásia (SMITH, 1945), o *B. splendens* pertence à Subordem Anabantoidei e à Família Osphronemidae (ITIS, 2015) (Tabela 1). É conhecido popularmente como peixe-de-briga-siamês, em virtude de ser natural de Sião como era o nome formal da Tailândia.

Tabela 1: Classificação zoológica de *Betta splendens*.

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Subfilo:	Vertebrata
Superclasse:	Osteichthyes
Classe:	Actinopterygii
Subclasse:	Neopterygii
Infraclasse:	Teleostei
Superordem:	Acanthopterygii
Ordem:	Perciformes
Subordem:	Anabantoidei
Família:	Osphronemidae
Gênero:	<i>Betta</i>
Espécie:	<i>Betta splendens</i>

Fonte: Integrated Taxonomic Information System – ITIS, 2015

O *B. splendens* foi descrito previamente como *Betta pugnax* e foi levado aos Estados Unidos para ser utilizado em competições de brigas

entre machos, como também pela sua forma e coloração (SMITH, 1945). Foi então que o ictiólogo Charles Tate Regan diagnosticou que *B. pugnax* era nativa da ilha de Pinang na Malásia, e que a forma encontrada na Tailândia era distinta (SMITH, 1945), à vista disso descreveu a espécie como *Betta splendens* em 1910.

A origem da palavra “*Betta*” vem da associação com uma tribo que dominava regiões do antigo Sião (hoje Tailândia), denominada Ikan Bettah, onde os seus guerreiros eram chamados “*Bettahs*” (FARIA *et al.*, 2006) e a palavra “*splendens*” tem sua origem do latim, *splendore* (SILVA, 2013). As palavras “*Betta splendens*” juntas significam “guerreiro brilhante”, uma referência ao comportamento agonístico e exibição de cores vívidas desse animal (JAROENSUTASINEE &JAROENSUTASINEE 2001; FOBERG, 2003).

Esses animais são geralmente encontrados em regiões alagadiças pobres em oxigênio, como pequenas poças de água e lagoas de baixa profundidade, por exemplo, em alagamentos ocasionados nas culturas de arroz (SMITH, 1945).

1.1.1 Anatomia

Os peixes *B. splendens* possuem a forma do corpo fusiforme e boca voltada para cima (FARIA *et al.*, 2006), que auxilia na captação de oxigênio atmosférico (Figura 2). O dimorfismo sexual da espécie em ambiente selvagem é pouco evidente, por vezes percebido pelo comportamento agressivo do macho, já em peixes de cativeiro o dimorfismo sexual se torna evidente a partir dos dois meses de idade (Fêmea figura 2A; Macho figura 2B), com as nadadeiras dos machos mais desenvolvidas (FARIA *et al.*, 2006), sendo sua formação na fase larval (CRUZ, TAKAHASHI & SABBAG, 2009). Os machos possuem nadadeira caudal longa e larga, nadadeira dorsal estreita e alta, pélvicas estreitas e pontiagudas (SANTILLÁN, 2007) (Figura 2B). Os machos selvagens atingem cerca de 5 cm de comprimento e as fêmeas um pouco menos, já os machos criados em cativeiro podem atingir de 6 a 6,5 cm de comprimento (SMITH, 1945).

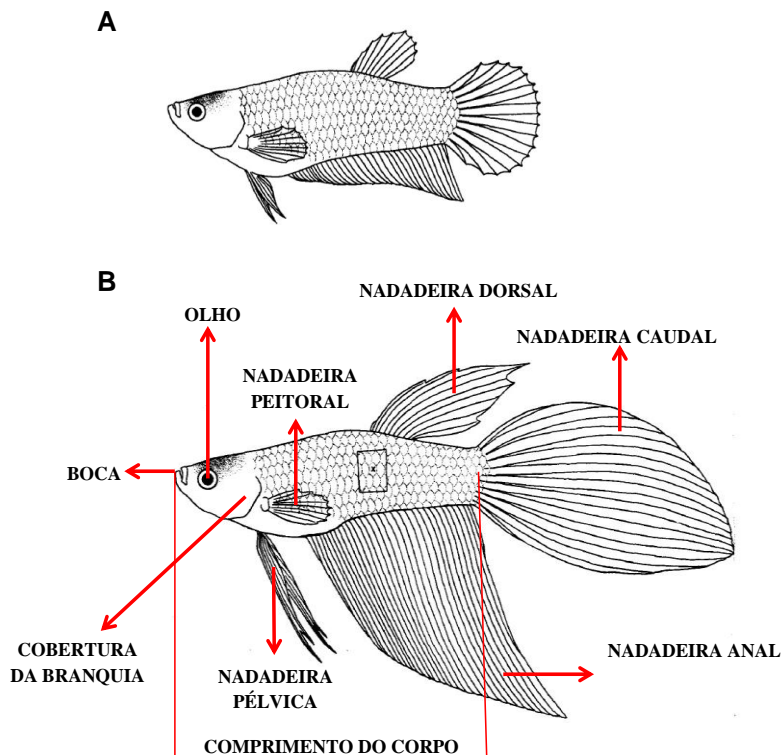


Figura 2: Imagem mostrando o dimorfismo sexual entre fêmeas (A) e machos (B) da espécie *Betta splendens*, juntamente com o esquema anatômico de um macho (B).

Fonte: Adaptado de WALLBRUNN (1958).

A coloração dos espécimes selvagens é discreta (FARIA *et al.*, 2006) e as diferentes colorações atuais são consequência da seleção artificial em cativeiro (SMITH, 1945), que tinha como interesse as características fenotípicas desta espécie como belas nadadeiras e corpo colorido como também o aumento na agressividade para serem utilizados em torneios de luta (FARIA *et al.*, 2006).

1.1.2 Alimentação

Peixes *B. splendens* tendem a se alimentar com maior facilidade na superfície da água por possuir uma morfologia característica, boca voltada para cima, portanto os alimentos que flutuam têm uma boa aceitabilidade por eles (FARIA *et al.*, 2006). No ambiente natural alimenta-se de zooplâncton, zoobentos e larvas de insetos (RAINBOTH, 1996). Em cativeiro esses animais costumam alimentar-se de ração específica, porém alimentos vivos, como artêmias, dáfrias, larvas de mosquito, enquitréia e larvas de drosófila, até alimentos *in natura* ou processados são bem aceitos e utilizados por produtores e adoradores desses peixes (FARIA *et al.*, 2006).

Levando em consideração esses aspectos alimentares, Pamplona *et al.* (2004) demonstraram a utilidade de *B. splendens* no controle biológico de certas espécies de mosquito, através de experimentos que demonstraram a capacidade do mesmo como agente de controle biológico para formas imaturas de *Aedes aegypti*.

1.1.3 Visão espectral

Através de testes comportamentais com curvas de sensibilidade espectral, descobriu-se que peixes possuem interação neural considerável ao tratar-se de cores, concluindo que tem a capacidade de distingui-las, podendo possuir dois ou mais tipos de cones (PITCHER & PARRISH, 1993). Os animais de água salgada possuem um intervalo de espectro de comprimento de onda absorvível ligeiramente menor que os animais de água doce, porém muitos enxergam diferentes cores (KUSMIC & GUALTIERI, 2000).

1.1.4 Respiração

Para sobreviver em condições de baixo teor de oxigênio dissolvido *B. splendens*, possui um órgão suprabranquial chamado de labirinto formado após duas semanas de vida (FARIA *et al.*, 2006). Esse órgão está localizado dorsalmente e auxilia na respiração por possibilitar a captura do oxigênio atmosférico (SILVA, 2013). O animal inspira o oxigênio pela boca que é conduzido ao labirinto, onde é comprimido e introduzido na corrente sanguínea do animal (SILVA, 2013). Este tipo de respiração aérea permite sua manutenção em pequenos aquários sem aeração, chamado de

“beteiras” (ZUANON *et al.*, 2009), assim o tornando um dos peixes de grande demanda na aquariofilia também em virtude dessa fácil manutenção (CRUZ, TAKAHASHI & SABBAG, 2009).

1.1.5 Comportamento agonístico

A interação agressiva varia de função entre as espécies e é dependente de condições sociais e ambientais (MARQUES *et al.*, 2013). Alguns animais muitas vezes competem com indivíduos da mesma espécie pelo acesso aos recursos, principalmente indivíduos do mesmo sexo (KARINO & SOMEYA, 2007). Na família do *B. splendens*, Osphronemidae, é evidente a importância do comportamento agonístico, pois a organização social é baseada na hierarquia de dominância e territorialidade (MARQUES *et al.*, 2013).

A exibição de comportamento agressivo particulariza-se pela movimentação em direção a um coespecífico, acompanhado de um aumento da saturação da coloração natural, abertura do opérculo e abertura das nadadeiras dorsal e caudal (BRONSTEIN, 1994). O peixe com a exibição e ataque mais persistente quase sempre ganha a competição fazendo seu oponente recuar (BRONSTEIN, 1982).

Segundo Bronstein (1983), a sequência agonística tem um curso de tempo específico podendo durar várias horas. O autor ainda cita que ao confrontar um macho de *B. splendens* com a imagem de um oponente, o mesmo aproxima-se da imagem e emite uma ou mais exibições de comportamento frontais e depois recua. Se o oponente realiza um contra-ataque, essa agressão é geralmente respondida por exibições de comportamento cada vez mais intensas, junto com ataques ao corpo do oponente, como por exemplo, mordidas. De acordo com o autor, o comportamento agonístico é encerrado quando um oponente para de exibir comportamentos agressivos, podendo demorar horas e, muitas vezes, cessa com a fuga do oponente. Este animal tem sido frequentemente estudado em laboratório por ser um exemplo de agressão em vertebrados, e descobertas recentes sugerem que suas atividades sociais são semelhantes à de alguns teleostes selvagens (BRONSTEIN, 1982).

Sendo o *B. splendens* um animal que apresenta inúmeras cores corporais, e sabendo da potencialidade em distinguir cores, surge a pergunta: será que um animal tem um maior interesse em se confrontar com um animal da mesma cor ou de cor diferente? Caso prefira se confrontar mais com o de cor semelhante, deve existir um mecanismo intrínseco que

favoreça o aumento da variabilidade fenotípica da população, o que faz sentido em termos evolutivos onde variabilidade tem grande valor adaptativo (HUGHES *et al.*, 2013), sendo essa a hipótese do presente estudo. Hughes *et al.* (2013) detectaram tal mecanismo em lebistes, onde a fêmea prefere um parceiro sexual de cor diferente e menos comum na população.

2. OBJETIVO GERAL

Investigar se existe preferência por coloração corporal em confrontos entre machos de *Betta splendens* que possa favorecer o aumento da variabilidade fenotípica.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detalhar e quantificar minuciosamente os diferentes comportamentos dos machos de *B. splendens* quando em contato visual com outros machos da mesma espécie;
- Identificar se existe preferência de coloração corporal na escolha primária para se confrontar;
- Investigar se o peixe de uma determinada cor tem mais interesse em confrontar com peixe da mesma cor ou com peixe de cor distinta, tanto em termos gerais quanto de comportamentos agonísticos específicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Somente espécimes machos da espécie *B. splendens*, nas cores azul e vermelho, foram utilizados nesse estudo, sendo analisadas 10 réplicas de cada cor, somando um total de 20 experimentos. A temperatura da água foi de $24,0 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ (média \pm desvio padrão) para os experimentos. Os peixes foram providos de cativeiro (Lojas de aquarofilia ou piscicultor da Região de Florianópolis e adjacências) com peso de $2,03 \pm 0,37$ g e comprimento padrão de $3,88 \pm 0,36$ cm.

3.2 AQUÁRIOS

Foram utilizados três aquários, um com dimensões de 30 X 30 cm e 15 cm de coluna d'água que abrigou o animal foco (média \pm desvio padrão; $2,07 \pm 0,37$ g; $3,87 \pm 0,36$ cm) a ser analisado, e os outros dois com dimensões de 12 X 12 cm (mais 15 cm de coluna d'água) que abrigaram um espécime cada um (Figura 3), sendo um peixe com coloração igual ao animal foco ($2,05 \pm 0,28$ g e $3,91 \pm 0,48$ cm) e o outro de coloração distinta ($1,97 \pm 0,39$ g e $3,87 \pm 0,31$ cm) com peso (Teste t dependente; $t = 1,01$ e $p = 0,32$) e tamanho ($t = 0,33$ e $p = 0,74$) similares, para que esses parâmetros não interferirem na preferência. Os peixes não-foco foram dispostos aleatoriamente, entre os aquários menores em cada teste (azul $2,03 \pm 0,38$ g e $3,85 \pm 0,24$ cm; vermelho $1,84 \pm 0,26$ g e $3,77 \pm 0,42$ cm). Os aquários possuíam fitas adesivas que os isolavam lateralmente de interferência visual com o meio externo, e somente o espécime analisado conseguia visualizar os outros dois aquários com os peixes não-foco, mas somente quando iniciava o experimento em si que é explicado abaixo.

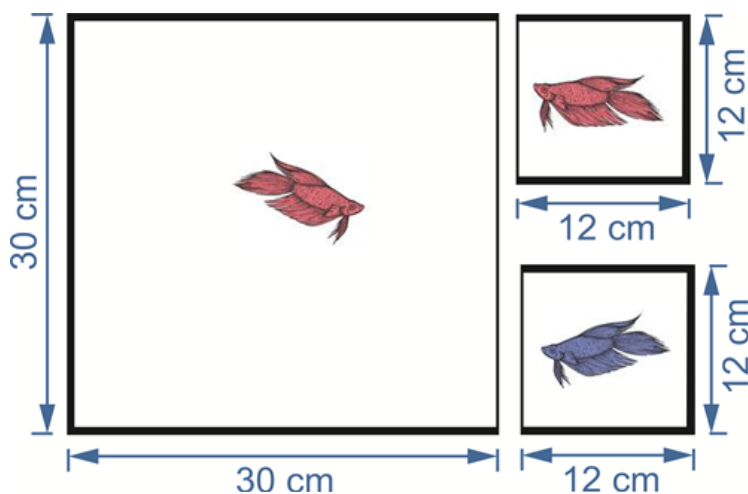


Figura 3: Disposição e dimensão dos aquários - as bordas grossas nas figuras dos aquários demonstram que as laterais são isoladas para que os animais não tenham contato visual com o meio externo.

Ilustração dos aquários: Eduardo de Souza Aguiar.

Ilustração dos peixes: João Francisco Souza.

3.3 EXPERIMENTO

Os experimentos foram realizados entre os meses de março a maio de 2015. Os animais foram submetidos a 12 h de fotoperíodo (07 h às 19 h), alimentados somente no dia seguinte ao experimento, evitando que um animal tenha mais energia que outro, medidos (comprimento total do corpo em cm; Figura 2) e pesados em balança de precisão após cada teste. Os animais eram colocados em seus respectivos aquários 24h antes da manipulação experimental, sendo o animal foco no aquário maior e os outros dois nos aquários menores. Neste momento os aquários estavam totalmente isolados por separadores opacos, impossibilitando a visão do animal foco com seus coespecíficos (Figuras 4 e 5).



Figura 4: Imagem demonstrativa da disposição dos aquários, dos separadores opacos fixo e removível, e dos peixes no vídeo.

Após as 24h, com o auxílio de um anteparo, o animal foco era conduzido à extremidade oposta do aquário em relação aos aquários dos peixes não-foco (~ 10 cm dessa extremidade oposta, como indicado na Figura 5). Essa dinâmica visou aumentar a distância entre os animais possibilitando a mesma probabilidade de visualização dos peixes não-foco por parte do peixe foco e, assim, analisar qual indivíduo o animal foco tem interesse em se confrontar primeiro. Logo após esse procedimento e, com o peixe foco no centro dessa área de início do experimento, eram retirados

esse anteparo e o separador removível (Figura 5) que impediam a visualização dos outros dois animais e então iniciava-se a observação da preferência agonística do animal foco por 30 min.

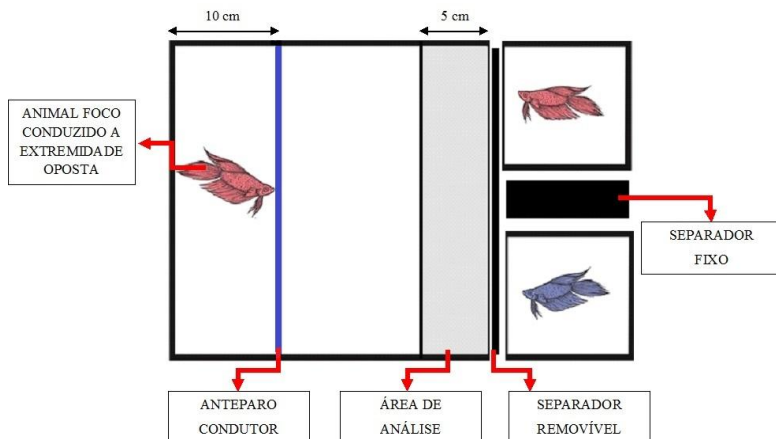


Figura 5: Esquema demonstrativo do anteparo condutor, da área de análise do comportamento agonístico e dos separadores opacos fixo e removível.

3.4 ANÁLISE DOS VÍDEOS

Os aquários eram vídeo-filmados por 30 min, como sugere Bronstein (1994) ao realizar testes com *B. splendens*, para posterior análise dos comportamentos em laboratório. Foi registrada a preferência agonística do animal, levando-se em conta o tempo de permanência do indivíduo em frente a cada aquário, a escolha primária do animal foco, ou seja, aquele peixe que primariamente ele se aproximou (escolheu) para iniciar um confronto agonístico. Além disso, também foram registrados os comportamentos agonísticos específicos, assim construindo um etograma desses comportamentos (vide etograma dos resultados no item 4.2) analisando os confrontos entre o peixe foco e peixe não-foco separando esses confrontos em categorias distintas com base na literatura pertinente e padrões mostrados pelos peixes. Depois dos comportamentos categorizados, foi analisado o tempo de ataque para os comportamentos específicos [Ataque Frontal (F), Ataque Lateral (L), Ataque Lateral com Bolha (LB)], a frequência do comportamento Bolha (B) e o tempo total dos comportamentos de Ataque (F+L+LB).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O peso e comprimento dos peixes foram comparados entre os peixes estímulos das duas cores pelo teste t de Student de maneira dependente entre os pares. Todas as comparações entre o tempo de permanência dos peixes em frente ao aquário, os tempos de ataque total e os de ataques específicos (F, L e LB), bem como a frequência do comportamento bolha foram comparados pelo Teste U de Mann-Whitney. A análise de proporções de Goodman (1965) comparou as proporções dos peixes primeiramente escolhidos (peixe da mesma cor *vs* peixe de cor distinta) tanto para o peixe azul quanto para o peixe vermelho. Quando se optou pela utilização de testes não paramétricos, pois pelo menos homocedasticidade (verificada pelo Teste de Levene) e/ou normalidade (Teste de Kolmogorov-Smirnov) não foram alcançados. Foi considerada diferença estatística quando $p < 0,05$.

3.6 ÉTICA

Os experimentos foram desenvolvidos dentro do âmbito do Projeto de Pesquisa do Laboratório de Biologia de Teleósteos e Elasmobrânquios (LABITEL) e estão de acordo com os preceitos da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA (<http://ceua.ufsc.br/>) sob os Protocolos PP00891 e PP00919.

4. RESULTADOS

4.1 TEMPO DE PREFERÊNCIA

Não foi identificada preferência agonística significativa por cor igual ou diferente ao do animal foco quando os dados do animal foco de cor azul e vermelho foram analisados em conjunto (Figura 6).

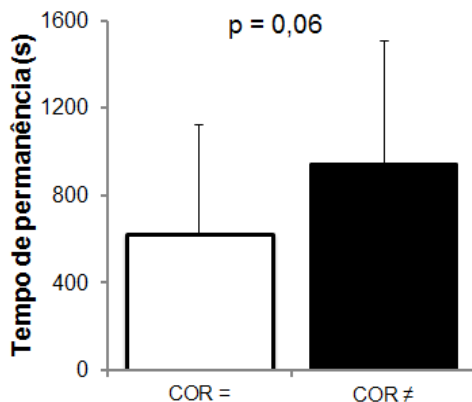


Figura 6: Tempo médio (\pm desvio padrão) de permanência que o animal foco despendeu em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente ($U = 131,0$).

Quando analisados separadamente os peixes foco de coloração azul apresentaram nítida preferência agonística por peixes de cor diferente (Figura 7A), entretanto os peixes foco de coloração vermelha não apresentaram preferência agonística significativa por qualquer das colorações (Figura 7B).

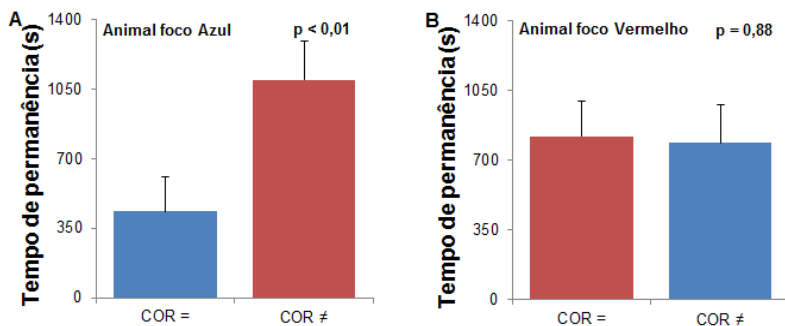


Figura 7: Tempo médio (\pm desvio padrão) de permanência que o animal foco (A: azul - $U = 48,0$; B: vermelho - $U = 15,0$) despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente.

A escolha primária não foi significativa [Teste de GOODMAN (1965); Intervalo de Confiança não inclui o valor zero para $A = 3,84$ com $\alpha = 0,05$] para nenhuma das cores como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Frequência de primeira escolha do peixes foco em relação ao peixe não-foco (N=10).

Peixe não-foco \ Peixe foco	Vermelho	Azul
Vermelho	6	4
Azul	5	5

4.2 ETOGRAMA

Através das observações, foi possível detectar quatro comportamentos agonísticos distintos:

- Ataque Frontal (F) – o animal foco põe-se frente ao aquário do animal não-foco com a boca voltada para o vidro, abre os opérculos e erija suas nadadeiras, por vezes fazendo movimentos bruscos de batida contra o vidro [baseado no comportamento “*Display Vertical*” descrito por Neto (2011)];
- Ataque Lateral (L) – o animal foco põe-se lateralmente ao aquário do animal não-foco fazendo movimentos em forma de “S” assim batendo com todo o seu corpo no vidro [baseado no comportamento “*Display Horizontal*” descrito por Neto (2011)];
- Ataque Lateral com Bolha (LB) – o animal foco realiza o ataque lateral soltando algumas bolhas quando realiza este comportamento;
- Bolha (B) – o animal afasta-se um pouco do vidro (mas ainda dentro da área de análise – Figura 5) e solta bolhas pela boca.

4.3 COMPORTAMENTOS ESPECÍFICOS

Não foi identificada preferência agonística significativa por cor quando analisados os quatro comportamentos específicos do animal foco (F; L; LB; B; Figura 8), bem como do tempo total de ataque ($U = 147,0$; $p = 0,16$) quando os dados do animal foco de cor azul e vermelho foram analisados em conjunto.

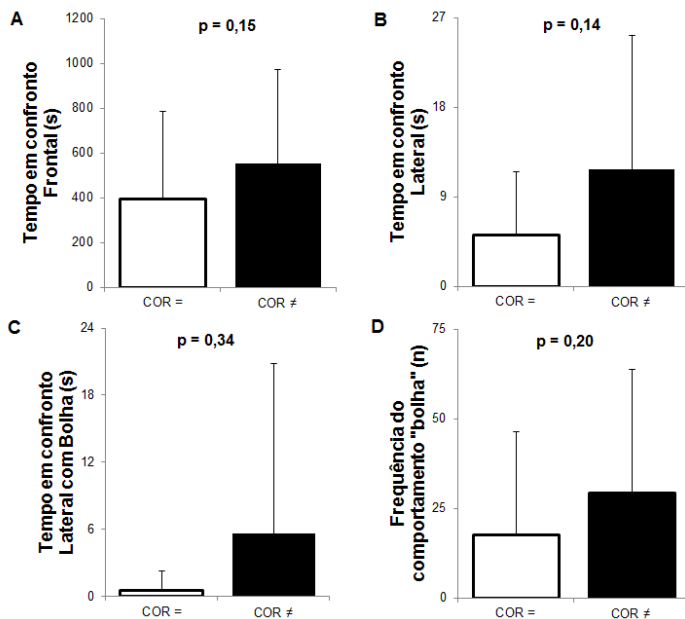


Figura 8: Média do tempo (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o Ataque Frontal (A) ($U = 147,0$), Ataque Lateral (B) ($U = 146,0$), Ataque Lateral com Bolha (C) ($U = 178,0$). Frequência (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o comportamento Bolha (D) ($U = 153,0$).

Quando analisado o animal foco separadamente, o animal foco azul demonstrou preferência significativa no tempo de Ataque total ($U = 220,0$; $p < 0,05$) contra o peixe de cor diferente. Os comportamentos F e B (Figura 9) também demonstraram esse mesmo perfil, porém nos comportamentos L e LB a preferência agonística por peixe não-foco de qualquer cor não foi significativa.

Por outro lado, o animal foco vermelho não apresentou qualquer preferência em confrontar-se com qualquer um dos peixes não foco em qualquer um dos comportamentos agonísticos (F; L; LB; B; Figura 9), bem como no ataque total ($U = 48,0$; $p = 0,88$).

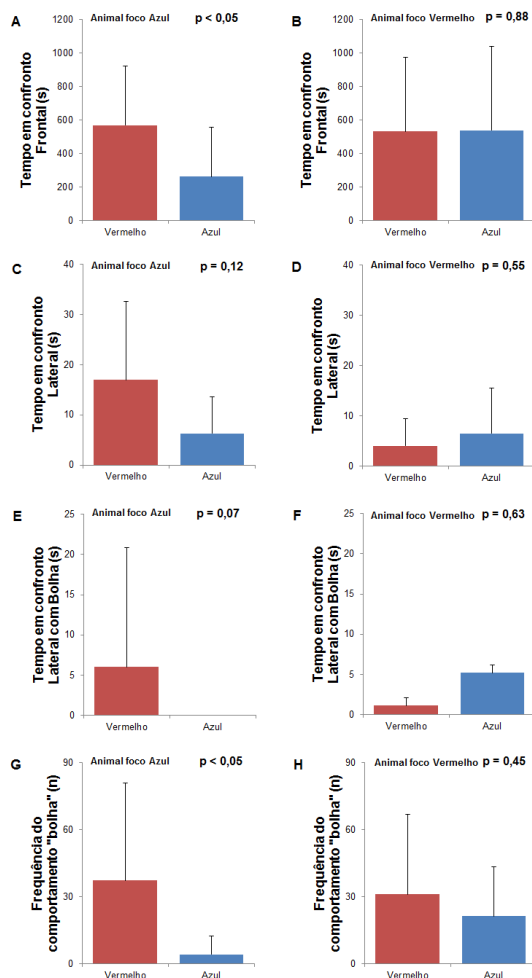


Figura 9: Média do tempo (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o comportamento Frontal (A: azul - $U = 22,0$; B: vermelho - $U = 48,0$), Lateral (C: azul - $U = 30,0$; D: vermelho - $U = 42,5$) e Lateral com Bolha (E: azul - $U = 35,0$; F: vermelho - $U = 46,0$); Frequência (\pm desvio padrão) que o animal foco despende em frente aos animais não-foco de cor igual e diferente realizando o comportamento Bolha (G: azul - $U = 21,5$; H: vermelho - $U = 40,0$).

5. DISCUSSÃO

Foi testada a hipótese de que um animal tem maior interesse em se confrontar com um animal da mesma cor em detrimento ao de cor distinta, assim favorecendo o aumento da variabilidade fenotípica da população. Concluiu-se o inverso da hipótese inicial para os animais de coloração azul, pois possuem uma preferência agonística por peixe de outra coloração (no caso, vermelho). Já para os animais vermelhos a hipótese não foi nem corroborada e também não foi invertida, pois não foi diagnosticada preferência por qualquer fenótipo de cor.

Hughes *et al.* (2013) encontraram um mecanismo de aumento (ou pelo menos manutenção) de variabilidade genética promovido por seleção natural e sexual num outro contexto que não o agonístico. Os autores realizaram experimentos com peixes lebistes da espécie *Poecilia reticulata* e identificaram que as fêmeas têm preferências fenotípicas por machos com padrões de cores raras para acasalamento. Uma das hipóteses seria que as fêmeas evitam acasalar com machos que compartilham os padrões de cores de seus companheiros anteriores para aumentar a diversidade genética das proles, assim aumentando suas chances de sucesso evolutivo. Outra hipótese seria que as preferências por escolha de padrões de colorações distintas se deve ao fato de diminuir as taxas de endogamia.

Embora não exista/não foram encontradas literaturas disponíveis que abordem preferências agonísticas por coloração corporal entre machos de *B. splendens*, trabalhos afirmam que fêmeas da espécie possuem preferências fenotípicas. Blakeslee *et al.* (2009) deixam evidente que a coloração do corpo e o tamanho do cardume afetam a escolha de fêmeas de *B. splendens*. Araújo (2013) através de seus experimentos chegou à conclusão que fêmeas de *B. splendens* permaneceram mais tempo em frente aos aquários de machos mais escuros quando analisada sua preferência na escolha de machos para acasalamento, sendo condizente com resultados obtidos em outros estudos sobre coloração de outras espécies, como o peixe esganagato, *Gasterosteus aculeatus* (PIKE *et al.*, 2007). Segundo Clotfelter *et al.* (2007) fêmeas de *B. splendens* têm maior preferência por machos de coloração vermelha em detrimento aos de coloração azul para acasalamento, sendo essa escolha uma possível influência dos carotenoides, visto que o animal que possuir mais desses pigmentos terá uma melhor imunidade. Os carotenoides são pigmentos insaturados e lipofílicos, podendo exibir uma variedade de cores desde o amarelo até o vermelho (CARDOSO, 1996). Podem ser encontrados em animais, plantas e

microrganismos, e participam como moduladores das respostas imunológicas (CARDOSO, 1996).

Assim, acredita-se que os animais foco azuis, por serem menos providos de carotenoides que os animais vermelhos, tenham preferências agonísticas com os animais não-foco vermelhos, podendo assim aumentar suas chances na escolha das fêmeas para o acasalamento. Já o animal foco vermelho não apresentou preferência por nenhum dos dois fenótipos, pois as duas cores que os animais não-foco possuíam apresentam cada qual uma característica importante. O animal não-foco de coloração igual, no caso o vermelho, possui os carotenoides que estimula o confronto, pois as fêmeas tem essa preferência fenotípica (CLOTFELTER *et al.*, 2007), por outro lado o oponente de cor diferente, agora o azul, pode ser um competidor que a fêmea tenha mais interesse pois sustentaria a variabilidade fenotípica da população (HUGHES *et al.*, 2013). Assim a preferência agonística de *B. splendens* pode ser influenciada tanto pelo competidor ter maior número de carotenoides, quanto apresentar diferente fenótipo. Hurtado-Gonzales & Uy (2010) realizaram testes com *Poecilia parae* e concluíram que ao explorar diferentes aspectos das interações sociais, machos podem evoluir suas estratégias de acasalamento tornando-as distintas e, portanto, favorecendo a manutenção em longo prazo dos polimorfismos dentro das populações. Também demonstraram que diferentes níveis de agressividade estão associados a diferentes estratégias de acasalamento, o que poderia ocorrer com *B. splendens*, podendo assim ser explicados as diferentes preferências agonística dos dois morfótipos coloridos neste trabalho, podendo ser este tema assunto para futuros estudos.

Mais testes se fazem necessários para uma maior comprovação do que foi sugerido neste trabalho, como por exemplo, comparar as respostas comportamentais dos animais não-foco para os comportamentos agonísticos dos animais foco, verificando se os comportamentos e preferências dos animais foco foram influenciados pelas respostas dos não-foco. Craft, Velkey & Szalda-Petree (2003) afirmam que machos de *B. splendens* possuem preferência em confrontar-se com um coespecífico em detrimento a sua imagem no espelho, sugerindo que essa preferência seja pelo fato de os movimentos do coespecífico serem não previsíveis, enquanto as do espelho dependiam do animal analisado. Elwood *et al.* (2014) realizaram experimentos com espécies de ciclídeos, analisaram as respostas do animal foco quando era confrontado com coespecíficos e com espelhos, descobriram que as respostas do animal foco eram mais frequentes, exibindo diferentes comportamentos quando confrontados com o

coespecífico, podendo isso ocorrer pelo fato de o coespecífico poder iniciar os primeiros movimentos da briga, e os movimentos da imagem no espelho serem totalmente dependentes do animal foco. Hotta *et al.* (2015) em testes comportamentais com peixes da espécie *Julidochromis transcriptus* descobriram que o peixe foco mudava consideravelmente seu comportamento quando exposto a peixes que nunca tinham visto. Assim podemos concluir que essa preferência pode ser também influenciada pelas respostas do oponente, e isso será investigado em novos experimentos.

Vale ressaltar também que uma das novidades do presente estudo foi a descrição de um comportamento agonístico de *B. splendens* que ainda não havia sido descrito anteriormente na literatura, o comportamento Bolha, que demonstrou frequência significativa para os animais foco de diferentes cores, e deve ser considerado para futuras pesquisas. Além disso, foram analisados quatro comportamentos específicos distintos, destes o comportamento Ataque Lateral com Bolha não foi significativo, porém o valor de p foi igual a 0,07 e tal comportamento foi nulo no combate entre os peixes azuis. Podemos relacionar essa circunstância ao fato do animal foco azul ter maior preferência em Ataques Frontais, também identificado nos experimentos de Neto (2011) onde o *Display* vertical (utilizado como base para descrever o comportamento Ataque Frontal) foi maior, sendo esses mais suscetíveis à desistência do oponente visto que com este ataque o animal pode executar mordidas, podendo até matar seu adversário (BRONSTEIN, 1983).

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, E. dos S.. **Mecanismos de seleção sexual em *Betta splendens* (regan, 1910): a influência de características sexuais secundárias e da disponibilidade de recurso na preferência das fêmeas.** 2013. 26 f. TCC (Graduação) - Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências da Educação e Saúde - FACES, Brasília, 2013.

BRONSTEIN, P. M.. Breeding, paternal behavior, and their interruption in *Betta splendens*. **Animal Learning & Behavior**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.145-151, 1982.

BRONSTEIN, P. M.. Onset of Combat in Male *Betta splendens*. **Journal of Comparative Psychology**, [s.l.], v. 97, n. 2, p.135-139, 1983.

BRONSTEIN, P. M.. On the predictability, sensitization, and habituation of aggression in male betas (*Betta splendens*). **Journal of Comparative Psychology**, [s.l.], v. 108, n. 1, p.45-57, 1994.

BLAKESLEE, C.; MCROBERT, S.P.; BROWN, A.C.; CLOTFELTER, E.D.. The effect of body coloration and group size on social partner preferences in female fighting fish (*Betta splendens*). **Behavioural Processes**, [s.l.], v. 80, n. 2, p.157-161, fev. 2009.

CARDOSO, S. L.. FOTOFÍSICA DE CAROTENÓIDES E O PAPEL ANTIOXIDANTE DE β -CAROTENO. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 5, p.535-540, dez. 1996.

CHAPMAN, F.A; FITS-COY, S.A.; THUNBERG, E. M.; ADMAS, C. M.. United States of America trade in ornamental fish. **Journal of the World Aquaculture Society**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.1-10, 1997.

CRAFT, B. B.; VELKEY, A. J.; SZALDA-PETREE, A.. Instrumental conditioning of choice behavior in male Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Behavioural Processes**, [s.l.], v. 63, n. 3, p.171-175, jul. 2003. Elsevier BV.

CRUZ, J. C. R. da; TAKAHASHI, L. S.; SABBAG, O. J.. Aspectos alimentares e viabilidade na produção de *Betta splendens*. In: V Simpósio

de Ciências da UNESP, 5., 2009, São Paulo. Simpósio. Dracena: Faculdade de Zootecnia – Unesp, 2009. p.1 – 3

CLOTFELTER, E. D.; ARDIA, D. R.; MCGRAW, K. J.. Red fish, blue fish: trade-offs between pigmentation and immunity in *Betta splendens*. **Behavioral Ecology**, [s.l.], v. 18, n. 6, p.1139-1145, 14 ago. 2007.

ELWOOD, R. W.; STOILOVA, V.; MCDONNELL, A.; EARLEY, R. L.; ARNOTT, G.. Do mirrors reflect reality in agonistic encounters? A test of mutual cooperation in displays. **Animal Behaviour**, [s.l.], v. 97, p.63-67, nov. 2014.

ESTADOS UNIDOS. ITIS. (Org.). **Integrated Taxonomic Information System on-line**. Disponível em: <<http://www.itis.gov>>. Acesso em: 1 dez. 2015.

FARIA, P. M. C.; CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; SOUZA, A. B.; CARVALHO, D. C.; MELO, D. C.; SALIBA, E. O. S.. Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens* (Regan 1910). **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p.134-149, jul/dez. 2006.

FOBERG, A. The Siamese fighting fish (*Betta splendens*) – An alternative fish species to use in evaluating the impact of endocrine disrupting chemicals with focus on aggressive performance. **Bulletin Of The Psychonomic Society**, [s.l.], v. 5, n. 13, 2003.

GOODMAN, L. A.. On Simultaneous Confidence Intervals for Multinomial Proportions. **Technometrics**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.247-254, jan. 1965.

HOTTA, T.; TAKEYAMA, T.; HEG, D.; AWATA, S.; JORDAN, L. A.; KOHDA, M.. The use of multiple sources of social information in contest behavior: testing the social cognitive abilities of a cichlid fish. **Frontiers In Ecology And Evolution**, [s.l.], v. 3, p.1-9, 3 ago. 2015.

HUGHES, K.A; HOUDE, A. E.; PRICE, A. C.; ROOD, F. H. Mating advantage for rare males in wild guppy populations. **Nature**, [s.l.], v. 503, n. 108, p.108-110, 2013.

HURTADO-GONZALES, J. L.; UY, J. A. C. Intrasexual competition facilitates the evolution of alternative mating strategies in a colour polymorphic fish. **Bmc Evol Biol**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.391-402, 2010.

JAROENSUTASINEE, M.; JAROENSUTASINEE, K.. Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. **Journal of fish biology**, [s.l.], v. 58, n. 5, p. 1311-1319, 2001.

KARINO, K.; SOMEYA, C.. The influence of sex, line, and fight experience on aggressiveness of the Siamese fighting fish in intrasexual competition. **Behavioural Processes**, [s.l.], v. 75, n.3, p.283-289, 2007.

KUSMIC, C.; GUALTIERI, P.. Morphology and spectral sensitivities of retinal and extraretinal photoreceptors in freshwater teleosts. **Micron**, [s.l.], v. 31, n. 2, p.183-200, 2000.

MARQUES, L. L.; SANTOS, T. G. dos; GOULART, A. V.; CATARDO, L. da S.. **Interações agonísticas em peixes *Betta splendens* (Osphronemidae)**, Universidade Federal do Pampa. Anais do Salão internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. Bagé: Universidade Federal do Pampa, 2013. 1 p.

NETO, J. S. da C.. **Dissociação entre observação e interação na modificação do display agressivo do *Betta splendens***. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento, Universidade Federal do Pará, Pará, 2011.

PAMPLONA, L. G. C.; LIMA, J. W. O.; CUNHA, J. C. L.; SANTANA, E. W. P.. Avaliação do impacto na infestação por *Aedes aegypti* em tanques de cimento do Município de Caninde, Ceara, Brasil, após a utilização do peixe *Betta splendens* como alternativa de controle biológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v.37, n.5, p.400-404, out, 2004.

PIKE, T. W.; BLOUNT, J. D.; BJERKENG, B.; LINDSTROM, J.; METCALFE, N. B.. Carotenoids, oxidative stress and female mating preference for longer lived males. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 274, n. 1618, p.1591-1596, 7 jul. 2007.

PITCHER, T. J & PARRISH, J. K.. **Behaviour of teleost fishes**. London: Chapman And Hall, 7. ed., 1993.

RAINBOTH, W. J.. **Fishes of the cambodian mekong**. Roma: FAO, 1996. 265 p.

SANTILLÁN, R. D. B.. **REPRODUÇÃO DO *Betta splendens***. 2007. 17 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2007.

SILVA, R. C. da.. **Ontogenia do trato digestório e desenvolvimento gonadal de *Betta splendens*: aspectos morfológicos**. 2013. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da Unesp (caunesp), Universidade Estadual Paulista Centro de Aquicultura da Unesp (caunesp), Jaboticabal, São Paulo, 2013.

SIMPSON, M. J. A.. The Display of the Siamese Fighting Fish, *Betta splendens*. **Animal Behaviour Monographs**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-73, 1968.

SMITH, H. M.. **The Fresh-Water Fishes of Siam, or Thailand**. Washington: United States Government Printing Office, 1945. 622 p.

ZUANON, J. A. S.; SALARO, A. L.; VERAS, G. C.; TAVARES, M. M. T.; CHAVES, W.. Tolerância aguda e crônica de adultos de beta, *Betta splendens*, a salinidade da água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v.38, n.11, p.2106-2110, 2009.

WALLBRUNN, H. M.. Genetics of the siamese fighting fish, *Betta splendens*. **Genetics**, Florida, v. 43, n. 3, p.289-298, maio 1958.